

## 粗壮脉纹孢菌发酵制备高活性膳食纤维的研究\*

涂宗财, 林德荣, 刘成梅, 刘光宪, 黎 鹏, 郑 明, 江国忠

(南昌大学食品科学教育部国家重点实验室, 江西南昌, 330047)

**摘 要** 以豆渣为原料, 研究了微生物发酵法制备高活性豆渣膳食纤维的工艺。该工艺产品与非发酵同类产品相比, 发酵膳食纤维的可溶性纤维含量和持水性均有较大提高, 其中可溶性膳食纤维含量为 26.38%, 持水力为 8.91, 发酵膳食纤维经动态超高压均质处理后, 其可溶性膳食纤维含量可提高到 41% 左右, 制备工艺简单易行、无污染。

**关键词** 豆渣高活性膳食纤维, 发酵, 超高压均质

膳食纤维作为一种功能性食品基料, 由于它具有诸多的生理功能, 现已成为研究的热门课题<sup>[1]</sup>。我国大豆资源丰富, 豆渣中膳食纤维含量高, 是一种很有开发利用前景的新型纤维资源。常见的制备膳食纤维的方法需要加入酸、碱、盐等试剂, 在处理过程中引入了大量阴、阳离子, 给膳食纤维的利用带来一些不利因素。本研究以豆渣为原料, 采用粗壮脉纹孢菌、黑曲霉菌种混合发酵, 从而改善豆渣膳食纤维的持水力等物化特性, 以达到提高豆渣膳食纤维中可溶性纤维含量及其生理功能的目的。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

豆渣, 南昌市青山湖菜市场购买; 菌种, 粗壮脉纹孢菌、黑曲霉; 脱脂奶粉、蔗糖, 市售。

JMS-80 胶体磨; GYS-200 申鹿牌高压均质机; ZDX-35B1 型座式自动电热压力蒸气灭菌器(上海申安医疗器械厂); FA2004N 型真空干燥箱、101C-3B 型恒温培养箱; NCJJ-0.2/150 型纳米超高压均质机(中国廊坊通用机械有限公司); M-700 型微射流均质机(美国 Microfluidics 公司); HMB-7018 超微粉碎机(北京环亚天元机械有限公司); BS323S 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); YLE-2000 点热恒温水浴锅(黄石市恒丰医疗器械有限公司); Mdr-离心喷雾干燥机(无锡市现代喷雾干燥设备公司)。

### 1.2 发酵剂制备

取合格脱脂奶粉、豆汁(豆渣与蒸馏水按 1:4 配比, 用捣碎机捣碎)、蔗糖等调匀分装于锥形瓶中, 置

于高压杀菌锅 120℃、15 min 杀菌。粗壮脉纹孢菌、黑曲霉分别接种于上述培养基中, 在 28℃ 摇床培养 2d, 经 2~3 次传代培养, 然后扩大培养, 制成生产发酵剂。

### 1.3 工艺流程

新鲜豆渣→筛选、清洗→调配→装瓶→高压杀菌→冷却→接种→发酵→漂洗→调 pH 值→高压、超高压均质→喷雾干燥→包装

#### 1.3.1 操作要点

(1) 选料: 选择新鲜的豆渣。

(2) 调料: 水与原料按质量比 4:1 混合, 往豆渣中加入 2% 的脱脂奶粉和 1.5% 的葡萄糖, 搅拌溶解, 混合均匀。

(3) 灭菌: 将豆渣装入瓶中, 用 90℃ 水浴加热 15 min 中, 然后快速冷却至室温。

(4) 接种: 在无菌室中, 按 1:1 加入已制备的粗壮脉纹孢菌和黑曲霉的生产发酵剂, 接种量为 3%~5%。

(5) 培养: 在 28℃ 选择霉菌恒温培养中培养 2~5d, 发酵产酸取出。

(6) 过滤和漂洗: 将发酵好的豆渣用 100 目滤布滤干, 滤渣用蒸馏水漂洗至中性。

(7) 胶体磨: 按滤渣质量的 5 倍加入蒸馏水稀释后过胶体磨。

(8) 高压和超高压均质: 物料分别在 20MPa 和 40MPa 下均质, 然后上微射流超高压均质。

(9) 喷雾干燥: 湿物料直接进行喷雾干燥, 即得浅黄色的高活性膳食纤维。

### 1.4 持水力的测定

准确称取过 100 目筛的膳食纤维 100 mg, 加入 100 mL 烧杯中, 用 25℃ 蒸馏水 25 mL 饱和 1 h, 置滤纸上沥干, 将结合了水的纤维转移到一表面皿上称

第一作者: 博士, 教授。

\* 国家中小企业创新基金项目(06C26213601346)

收稿日期: 2007-10-17

重。计算公式:

$$\text{持水力(WHC)} = \frac{\text{样品湿重(g)} - \text{样品干重(g)}}{\text{样品干重(g)}}$$

### 1.5 溶胀性

准确称取过 100 目筛的膳食纤维 100mg,置于 10 mL 量筒中,用移液管移取 5 mL 的蒸馏水,振荡均匀后,放在室温下,精确读取纤维在量筒中自由膨胀的体积。计算公式:

$$\text{溶胀性(SW)} = \frac{\text{溶胀后纤维体积(mL)} - \text{干样品体积(mL)}}{\text{样品干重(g)}}$$

### 1.6 膳食纤维的成分分析<sup>[3,4]</sup>

水分含量:按 GB5009.3-1985 测定。灰分含量:按 GB5009.4-1985 测定。淀粉含量:按酶水解法测定。蛋白质含量:采用微量凯氏定氮法。水溶性膳食纤维(SDF)含量:AOAC 法。水不溶性膳食纤维(IDF)含量:AOAC 法。总膳食纤维(TDF)含量:AOAC 法。

## 2 结果与讨论

### 2.1 发酵条件对提高大豆可溶性纤维成分的影响

通过单因素实验证明,培养温度、豆渣浓度(豆渣与水的比例)、菌种比例和接种量等 4 个因素对产品发酵产生 SDF/TDF 影响较大,因此,采用正交试验确定发酵条件。

表 1 正交因素水平表

| 水平 | 培养温度/℃ | 豆渣浓度/% | 菌种配比  | 接种量/% |
|----|--------|--------|-------|-------|
| 1  | 28     | 15     | 1:0.5 | 3     |
| 2  | 32     | 20     | 1:1   | 4     |
| 3  | 36     | 25     | 1:1.5 | 5     |

表 2 正交试验结果

| 实验号             | 因素          |             |           |            | 得率             |
|-----------------|-------------|-------------|-----------|------------|----------------|
|                 | 培养温度<br>A/℃ | 豆渣浓度<br>B/% | 菌种配比<br>C | 接种量<br>D/% | SDF/TDF<br>(%) |
| 1               | 1           | 1           | 1         | 1          | 19.82          |
| 2               | 1           | 2           | 2         | 2          | 26.38          |
| 3               | 1           | 3           | 3         | 3          | 18.23          |
| 4               | 2           | 1           | 2         | 3          | 17.78          |
| 5               | 2           | 2           | 3         | 1          | 24.98          |
| 6               | 2           | 3           | 1         | 2          | 24.01          |
| 7               | 3           | 1           | 3         | 1          | 19.35          |
| 8               | 3           | 2           | 1         | 3          | 24.28          |
| 9               | 3           | 3           | 2         | 1          | 18.73          |
| k <sub>1j</sub> | 21.477      | 18.983      | 22.703    | 21.177     |                |
| k <sub>2j</sub> | 22.257      | 25.213      | 20.963    | 23.247     |                |
| k <sub>3j</sub> | 20.787      | 20.323      | 20.853    | 20.097     |                |
| R               | 1.470       | 6.230       | 1.850     | 3.150      |                |

试验结果表明,影响发酵产品 SDF/TDF 值的主

次因素依次为豆渣浓度、接种量、菌种配比和培养温度,豆渣浓度对发酵产品 SDF/TDF 的值的影响力最大,培养温度影响力最小,适宜实验结果为:A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即培养温度为 28℃,豆渣浓度为 20%,菌种配比为 1:1(L. b/S. t),接种量为 4%。

从试验结果还可看出,发酵能将可溶性膳食纤维的含量提高到 26.38% 左右,原因可能是由于粗壮脉纹孢菌不仅能够产生纤维素酶、半纤维素酶分解纤维素、半纤维素产生葡萄糖和木糖等单糖<sup>[4,5]</sup>;链霉属的菌又可以分解纤维素从而产生低聚糖;黑曲霉可分泌阿拉伯聚糖酶、纤维素酶<sup>[6]</sup>,它能利用豆渣作原料将低聚糖从豆渣中释放出来。从而使可溶性粗纤维含量提高。

### 2.2 发酵对大豆纤维的化学组成及物化特性的影响

由粗壮脉纹孢菌和黑曲霉混合发酵制得大豆膳食纤维为浅黄色粉末,产品无异味,且具有天然的豆乳香味。化学成分见表 1。

表 3 发酵对大豆高活性膳食纤维化学组成的影响 %

| 试 样     | 水分   | 蛋白质   | 淀粉   | 灰分   | 总纤维   | SDF/TDF |
|---------|------|-------|------|------|-------|---------|
| 非发酵膳食纤维 | 5.89 | 10.72 | 3.75 | 3.23 | 76.41 | 16.96   |
| 发酵膳食纤维  | 5.59 | 7.03  | 0.09 | 2.36 | 84.93 | 26.38   |

注:非发酵法的数据为酶-碱结合法提取的数据。

由表 3 可看出,2 种膳食纤维的主要成分是蛋白质、淀粉和粗纤维。经发酵后,蛋白质、淀粉等含量减少,而粗纤维含量增加,可溶性膳食纤维含量增加,由 16.96% 上升到 26.38%,增加约 9.42%。

表 4 发酵对大豆高活性膳食纤维持水力的影响

| 试 样     | 样品重/g | 样品湿重/g | 水分重/g | 持水力/g |
|---------|-------|--------|-------|-------|
| 非发酵膳食纤维 | 0.100 | 0.797  | 0.697 | 6.97  |
| 发酵膳食纤维  | 0.100 | 0.991  | 0.891 | 8.91  |

表 5 发酵对大豆高活性膳食纤维溶胀性的影响

| 时 间     | 30 min | 60 min | 2h   | 6h   | 24h  |
|---------|--------|--------|------|------|------|
| 非发酵膳食纤维 | 7.07   | 7.11   | 7.70 | 7.76 | 7.76 |
| 发酵膳食纤维  | 7.18   | 7.20   | 7.46 | 7.53 | 7.53 |

从表 4 和表 5 可知,发酵对大豆(豆渣)膳食纤维溶胀性影响较小,对持水力影响较为显著。经发酵后大豆膳食纤维的溶胀性由 7.76 变为 7.53,持水力却由 6.27 上升到 8.91,提高约 28%,原因主要是由于粗壮脉纹孢菌不仅能够产生纤维素酶、半纤维素酶分解纤维素、半纤维素产生葡萄糖和木糖等单糖,链霉属的菌又可以分解纤维素从而产生低聚糖,从而使可溶性粗纤维含量提高。

### 2.3 不同干燥温度对发酵后大豆纤维感官性状的影响

大豆纤维经微生物发酵后,在不同温度下进行真

空干燥,其感官性状变化较大。

表6 干燥温度对膳食纤维感官性状的影响

| 温度/℃ | 色   | 香        | 味    |
|------|-----|----------|------|
| 60   | 淡黄  | 发酵特有豆乳香  | 微香甜味 |
| 70   | 米黄  | 豆乳香明显    | 香甜味  |
| 80   | 黄色  | 豆乳香明显    | 香甜味  |
| 90   | 深黄  | 清香中伴微焦香味 | 微焦糊味 |
| 105  | 黄褐色 | 焦糊味无豆乳香味 | 焦糊味  |

从表6可看出,以70℃真空干燥获得的大豆纤维,色、香、味俱佳,因此选用70℃的真空干燥。

#### 2.4 超高压均质对膳食纤维的可溶性含量的影响

在发酵处理的基础上,采用超高压均质机对发酵后的大豆膳食纤维进一步处理和改性,均质压力分别为20、40、60、80、100、120、140、160、180 MPa。发酵处理后再均质,均质效果如图1所示。

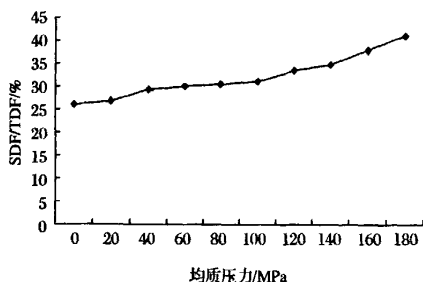


图1 不同均质压力对SDF/TDF影响

图1的曲线上升比较平缓,表明发酵可使膳食纤维的结构变得比较松散,均质过程中主要是剪切力起作用<sup>[7]</sup>,在均质压力为180 MPa下均质即可将可溶性膳食纤维含量提高到41%左右,随着压力的升高,可溶性膳食纤维含量仍会增加,但80 MPa到140 MPa增加的幅度不大,140 MPa到180 MPa增加的幅度比较大。因此,经发酵超高压微射流均质处理能解决可溶性膳食纤维含量难于提高的问题。

### Sturdy on Production of High-activity Dietary Fiber from Soybean Dregs in *Neurospora crassa*

Tu Zongcai, Lin Derong, Liu Chengmei, Liu Guangxian,

Li Peng, Zheng Ming, Jiang Guozhong

(Key Laboratory of Food Science Ministry of Education Nanchang University, Nanchang 330047, China)

**ABSTRACT** Using bean dregs as raw material, high-activity dietary fiber is produced by microorganism fermentation. Compared with the non-fermentation similar product, the results showed that after fermentation, the content of soluble dietary fiber and the water hold power improved; the amount of SDF achieved 26.38% and the retention ability is 8.91. SDF of fermentation dietary fiber from Instantaneous high pressure homogenization is above 41%. This method presented no pollution, and is easy to use.

**Key words** soluble dietary fiber (SDF), fermentation, instantaneous high pressure

### 3 结 论

(1)利用粗壮脉纹孢菌和黑曲霉混合发酵制得的豆渣膳食纤维为浅黄色、天然的豆乳香味的粉末产品,其生产过程简便,成本低廉,产品无异味,易于实现工业化。与非发酵的豆渣膳食纤维相比,发酵的同类产品口感更香甜,可溶性纤维含量更高,持水力更大,生理活性更好。

(2)当发酵温度为28℃,豆渣浓度为20%,菌种配比为1:1(L. b/S. t),接种量为4%时产生可溶性膳食纤维含量达到最高。干燥温度以70℃的真空干燥效果较好。

(3)经发酵的膳食纤维通过超高压作用后,其SDF/TDF比值随均质压力的上升而增大,其所受压力越大,可溶性成分增加越多。经180 MPa处理后,其SDF/TDF比值可达到41.14%。与同期的非发酵的产品相比效果更好。

### 参 考 文 献

- 1 郑建仙. 功能性食品[M]. 北京:中国轻工业出版社,1995
- 2 Asp N G, Johansson C G, Hallmer, H et al. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber [J]. J Agric Food Chem, 1993, 31: 476~482
- 3 无锡轻工业学院, 天津轻工业学院合编. 食品分析[M]. 轻工业出版社, 1995
- 4 Romero M D, Aguado J, Gonzalez L, et al. Cellulase production by *Neurospora crassa* on wheatstraw [J]. Enzyme and Microbial Technology, 1999, 25: 244~250
- 5 Christakopoulos P, Macris B J, Kekos D. On the mechanism of direct conversion of cellulose to ethanol by *Fusarium oxysporum*; effect of cellulose and beta-glucosidase [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1990, 33: 18~20
- 6 Kroon P A. Release of ferulic acid from sugar beet pulp by using arabinanase, arabinofuranosidase and an esterase from *Aspergillus niger* [J]. Biotechnol Appl Biochem, 1996, 23(1): 263
- 8 涂宗财, 李金林. 微生物发酵法研制高活性大豆膳食纤维的研究[J]. 食品工业科技, 2005, 26(5): 116~117